



UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
CURSO BACHARELADO EM BIOMEDICINA

ALINE DOS SANTOS DE MELO
BÁRBARA BRITO ARAÚJO

FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (PINHÃO-BRAVO) FRENTE A *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill.

PARNAÍBA
2021

ALINE DOS SANTOS DE MELO
BÁRBARA BRITO ARAÚJO

FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (PINHÃO-BRAVO) FRENTE A *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill.

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Ivanilza Moreira de Andrade
Coorientador: Me. Tássio Henrique Sousa Silva

PARNAÍBA

2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba
Biblioteca Prof. Cândido Athayde
Serviço de Processamento Técnico

M528f Melo, Aline dos Santos de

Fitoquímica e avaliação do potencial antifúngico de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (pinhão-bravo) frente a *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill [recurso eletrônico] / Aline dos Santos de Melo, Bárbara Brito Araújo. – 2021.

1 Arquivo em PDF.

TCC (Bacharelado em Biomedicina) – Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2021.

Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Ivanilza Moreira de Andrade

Coorientação: Prof. Me. Tássio Henrique Sousa Silva

1. Atividade Biológica. 2. Antifúngico. 3. Extrato Vegetal. 4. Metabólitos Secundários. I. Título.

CDD: 579.5

ALINE DOS SANTOS DE MELO
BÁRBARA BRITO ARAÚJO

FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (PINHÃO-BRAVO) FRENTE A *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPAr, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

APROVADO EM: 24/11/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ivanilza Moreira de Andrade - UFDPAr
Presidente



Prof. Dr. Jean Carlos Gomes Paiva - UFRR
1º Examinador



Prof^a. Dr^a. Maria Helena Alves

Prof^a. Dr^a. Maria Helena Alves - UFDPAr
2º Examinador

AGRADECIMENTOS

Eu, Aline dos Santos de Melo,

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar a capacidade e sabedoria para desenvolver este trabalho.

À orientadora professora Dr^a Ivanilza Moreira de Andrade pelo acolhimento em seu laboratório, por sua orientação e conhecimentos compartilhados.

Ao coorientador Me. Tássio Henrique Souza Silva por nos dar a oportunidade de fazer parte deste projeto, por seu apoio e experiências divididas conosco.

À Universidade Federal do Delta do Parnaíba e ao corpo docente do curso de biomedicina por todo conhecimento, experiência, conselhos e ensinamentos que me foram passados, que contribuíram muito para minha formação profissional e também ajudaram a me tornar uma pessoa melhor.

À minha companheira Bárbara Brito Araújo por embarcar comigo nessa aventura, por sua paciência, amizade, companheirismo, pois sem sua companhia esse trabalho não seria o mesmo.

À minha irmã Alane, por seu apoio em tudo.

E a todos que, de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo.

AGRADECIMENTOS

Eu Bárbara Brito Araújo,

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre ser minha base nos momentos mais difíceis e pela sabedoria a mim concedida.

À minha família pelo apoio e esforços realizados para que eu conseguisse atingir os meus objetivos.

À orientadora Prof.^a Dr.^a Ivanilza Moreira de Andrade por ter nos recebido em seu laboratório, pelo investimento, disponibilidade, assim como, pela orientação.

Ao coorientador Me. Tássio Henrique Sousa Silva pela oportunidade de desenvolver esse trabalho, pelos ensinamentos e dedicação durante todo o processo, que nos ajudaram na finalização desse trabalho.

À minha dupla Aline dos Santos de Melo, pois não teria conseguido realizar essa pesquisa sem sua contribuição, pela amizade e por todos os momentos compartilhados.

À minha amiga Mônica que sempre esteve ao meu lado, principalmente nos momentos mais difíceis.

Também quero agradecer à Universidade Federal do Delta do Parnaíba e a todos os professores do curso de Biomedicina pela elevada qualidade do ensino oferecido.

E a todos que colaboraram para o desenvolvimento dessa pesquisa.

RESUMO

A ocorrência de infecções fúngicas invasivas aumentou nas últimas décadas, constituindo uma grave ameaça à saúde humana, principalmente em pacientes imunocomprometidos. Esse cenário, está relacionado ao reduzido número de antifúngicos autorizados para uso e a resistência das cepas às opções de tratamento. Contudo, as limitações das farmacoterapias atuais, fizeram com que as indústrias farmacêuticas considerassem os recursos da flora brasileira como importante fonte de matéria-prima para novos medicamentos. Dentre as espécies da flora brasileira, pode ser citada *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, conhecida como pinhão-bravo e amplamente utilizada na medicina popular. Este trabalho objetivou-se avaliar o potencial antifúngico *in vitro* de extratos etanólico, metanólico e isopropílico de folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill frente a *Cryptococcus neoformans*, bem como, a análise fitoquímica qualitativa para a identificação dos principais metabólitos secundários presentes nas folhas. A avaliação da atividade antifúngica foi realizada através do método de microdiluição em caldo seguindo as recomendações da CLSI M27-A2. Para a avaliação fitoquímica, foram realizados testes qualitativos para saponinas, ácidos orgânicos, alcalóides, flavonoides, flavononas, fenóis e taninos. Os resultados demonstraram a presença de metabólitos secundários como ácidos orgânicos, alcalóides, saponinas, flavononas, fenóis e taninos. A atividade antifúngica os extratos metanólico e isopropílico de *J. mollissima* evidenciaram o melhor resultado de inibição fúngica apresentando concentração inibitória mínima de 250 µg/ml, sendo classificada como moderada. Portanto, os extratos de *J. mollissima* têm potencial inibitório contra o *C. neoformans*. Esse fator inibitório pode estar associado aos compostos secundários presente nas folhas, sendo necessário mais estudos para a identificação do metabolito.

Palavras-chave: Atividade biológica; Antifúngico; Extrato vegetal; Metabólitos secundários.

ABSTRACT

The occurrence of invasive fungal infections has increased in recent decades, constituting a serious threat to human health, especially in immunocompromised patients. This scenario is related to the reduced number of antifungal agents authorized for use and the strains' resistance to treatment options. However, as limitations of current pharmacotherapies, it made the pharmaceutical industries consider the resources of the Brazilian flora as an important source of raw material for new drugs. Among the species of the Brazilian flora, one can mention *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, known as wild jatropha and used in folk medicine. This work aimed to evaluate the in vitro antifungal potential of ethanolic, methanolic and isopropyl extracts of *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill leaves against *Cryptococcus neoformans*, as well as a qualitative phytochemical analysis to identify the main metabolites present in the leaves. The evaluation of antifungal activity was performed using the broth microdilution method following the recommendations of CLSI M27-A2. For a phytochemical evaluation, qualitative tests were carried out for saponins, active acids, alkaloids, flavonoids, flavonones, phenols and tannins. The results demonstrated the presence of secondary metabolites such as actives, alkaloids, saponins, flavonones, phenols and tannins. The antifungal activity of methanolic and isopropyl extracts of *J. mollissima* showed the best result of reduced fungal inhibition at least 250 µg / ml, being considered as moderate. Therefore, *J. mollissima* extracts have inhibitory potential against *C. neoformans*. This inhibitory factor may be associated with secondary compounds present in leaves, requiring further studies to identify the metabolite.

Keywords: Biological activity; Antifungal; Vegetable extract; Secondary metabolites.

LISTA DE SIGLAS

5-FC	Flucitosina
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AMB	Desoxicolato
APS	Atenção Primária à Saúde
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CGB	Canavanina-Glicina-Azul de Bromotimol
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standards Institute</i>
CrAg	Antígeno Criptocócico
DHN	1,8-di-hidroxinaftaleno
DMSO	Dimetilsulfóxido
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FLC	Fluconazol
GalXM	Galactoxilomanano
GXM	Glucuronoxilomanano
HCL	Ácido Clorídrico
HDELTA	Herbário do Delta do Parnaíba
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
LA	Aglutinação do Látex
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
L-DOPA	Di-hidroxifenilalanina
MEP	Metileritritol Fosfato
MEV	Ácido Mevalônico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
RPMI 1640	Roswell Park Memorial Institute
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
UFDPAr	Universidade Federal do Delta do Parnaíba

LISTA DE FIGURAS

- Figura1 - *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Detalhe da folha; B. Inflorescência; C. Fruto; D. Semente.....27
- Figura 2 - Presença de ácidos orgânicos no extrato metanólico de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill.....35
- Figura 3 - Presença de Saponinas espumicida em extratos de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Extrato metanólico; B. Extrato etanólico; C. Extrato isopropílico. As setas pretas indicam a formação de espuma.....36
- Figura 4 - Presença de Fenóis e taninos em extratos de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Extrato metanólico; B. Extrato isopropílico.....37
- Figura 5 - Presença de Flavononas em extratos de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Extrato metanólico; B. Extrato isopropílico.....37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Presença de metabólitos secundários presentes na planta <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill (Pinhão-bravo)	28
Tabela 2 - Resultado do rendimento dos extratos das folhas de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill, proveniente do município de Caxingó, Piauí.....	34
Tabela 3 - Análise qualitativa da fitoquímica dos extratos das folhas de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill, coletada em Caxingó, PI.....	35
Tabela 4 - Demonstração da atividade antifúngica dos extratos das folhas de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill, coletada em Caxingó, PI.....	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Geral	16
2.2 Específico	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 <i>Cryptococcus neoformans</i>	17
3.1.1 Morfologia e identificação	17
3.1.2 Mecanismos de virulência	18
3.2 Criptococose e Meningite Criptocócica	20
3.3 Antifúngicos	21
3.4 Etnobotânica	22
3.5 Plantas medicinais e fitoterápicos	23
3.6 Metabólitos secundários das plantas	25
3.7 <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill	26
4 METODOLOGIA	29
4.1 Meios e reagentes utilizado	29
4.2 Coleta de amostras	29
4.2.2 Amostras de <i>Cryptococcus neoformans</i>	29
4.2.3 Coleta de material vegetal	29
4.3 Processamento das amostras	30
4.3.1 Recuperação das amostras	30
4.3.2 Preparo dos extratos vegetais.....	30
4.3.3 Microdiluição	31
4.3.4 Preparo do inóculo	31
4.3.5 Inoculação no meio RPMI	32
4.3.6 Incubação e leitura dos resultados	32
4.4 Fitoquímica	32
4.4.1 Preparação das suspensões	32
4.4.2 Saponinas espumicida	32
4.4.3 Ácidos orgânicos	33
4.4.4 Alcaloides	33

4.4.5 Flavonoides	33
4.4.6 Fenóis e taninos	33
4.4.7 Flavononas	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Rendimento dos extratos.....	34
5.2 Testes Fitoquímicos.....	34
5.3 Teste Antifúngico.....	38
6 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

A criptococose foi reconhecida na década de 1980, durante a pandemia da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), como uma grande ameaça à saúde. Essa infecção fúngica invasiva é causada por leveduras encapsuladas de *Cryptococcus* spp., que comumente estão presentes no ambiente, podendo infectar humanos quando seus esporos são inalados (MAY *et al.*, 2016; DINIZ *et al.*, 2019; GANDELMAN; SILVA, 2019).

Cryptococcus Vuill., pertencente à família Tremellaceae, classe Tremellomycetes e filo Basidiomycota, apresenta mais de 70 espécies identificadas, sendo *Cryptococcus neoformans*, um dos principais agentes etiológicos de criptococose em humanos (KWON-CHUNG, 1975; SETIANINGRUM; RAUTEMAA-RICHARDSON; DENNING, 2018).

No ambiente, *C. neoformans* é comumente encontrada no solo, associada a excrementos de pombos, causando infecções em indivíduos imunocomprometidos, principalmente pacientes com AIDS. Essa levedura é neurotrópica após causar infecção pulmonar, podendo se espalhar para o sistema nervoso central (SNC) causando a meningite criptocócica (FANG; FA; LIAO, 2015; LIMA; KLAFKE; XAVIER, 2015; CHEN *et al.*, 2017; VIJ; CORDERO; CASADEVALL, 2018).

Anualmente, cerca de um milhão de casos de meningite criptocócica e 625.000 mortes ocorrem em todo o mundo entre indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), sendo a África Subsaariana e o Sudeste da Ásia as regiões com maior ocorrência (WORASILCHAI *et al.*, 2016).

Assim como a meningite criptocócica, a ocorrência de infecções fúngicas invasivas aumentou consideravelmente nas últimas décadas, constituindo uma contínua e grave ameaça à saúde humana, principalmente em pacientes imunocomprometidos. Estima-se que aproximadamente 1,2 bilhão de pessoas em todo o mundo são afetadas, com pelo menos 1,5 milhão de mortes a cada ano. Esse cenário está relacionado ao reduzido número de antifúngicos autorizados para uso e a resistência das cepas às opções de tratamento impedindo ainda mais a resolução desse problema (MOHAMMAD *et al.*, 2017; FUENTEFRÍA *et al.*, 2018). Portanto, é evidente a necessidade de novos antifúngicos ativos, seguros e seletivos para que se possa ter um tratamento eficaz contra doenças fúngicas, considerando-se que a maior parte dos antifúngicos usados não são completamente efetivos devido à crescente

resistência, a toxicidade causada no hospedeiro e aos efeitos colaterais indesejáveis o que restringem seu uso na prática clínica (CAMPOY; ADRIO; 2017).

Diante deste contexto, os recursos da flora são considerados importantes fontes de matérias-primas para a produção de novos medicamentos. No caso da flora brasileira, podemos citar *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, espécie conhecida popularmente como pinhão-bravo, amplamente utilizada na medicina popular.

Atividade biológica utilizando látex de *J. mollissima* tem sido evidenciada em estudos para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, assim como, agente hemostático e antifúngico (FREITAS *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2016; QUEIROZ NETO *et al.*, 2019). Essas atividades devem estar relacionadas aos metabólitos secundários, como os flavonoides, taninos, fenóis, saponinas, entre outros. A essas moléculas bioativas são atribuídas ações capazes de modular o processo inflamatório, combater infecções e melhorar a resposta imunológica (SABANDAR *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2014; REZENDE *et al.*, 2016; DIAS *et al.*, 2019).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o potencial antifúngico *in vitro* de extratos etanólico, metanólico e isopropílico de folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill frente a *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill., bem como, a análise fitoquímica qualitativa para a identificação dos principais metabólitos secundários presentes.

2.2 Específico

- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólico, metanólico e isopropílico de folhas de *Jatropha mollissima* frente a *Cryptococcus neoformans*;
- Identificar os principais metabólitos secundários presentes nas folhas da planta, a partir da análise fitoquímica qualitativa;
- Identificar qual solvente extrator apresenta melhor desempenho.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Cryptococcus neoformans*

Cryptococcus é representado por leveduras encapsuladas, pertencentes ao filo *Basidiomycota*, composto por mais de 70 espécies, das quais algumas são patogênicas para seres humanos e alguns animais, tais como *Cryptococcus neoformans*. Esse patógeno infecta humanos e outros animais através da inalação de esporos presentes no ambiente, causando pneumonia e meningoencefalite (BASTOS *et al.*, 2018; SETIANINGRUM; RAUTEMAA-RICHARDSON; DENNING, 2018).

Cryptococcus neoformans, responsável por causar cerca de 223.000 infecções e 181.100 mortes anualmente em pacientes com HIV, encontra-se distribuída em todo o mundo, sem área endêmica definida. Pode ser encontrada principalmente em excrementos aviários, em especial de pombos. Sendo o ambiente urbano favorável para a permanência destas aves, proporcionando acúmulo de excretas, considerado a fonte de infecção mais importante para homens e animais. Outros reservatórios desse fungo são algumas espécies de árvores (BERMAS; MCALISTER, 2020; SOUZA; SOUSA, 2018).

A espécie apresenta duas variedades, a *grubii* correspondendo ao sorotipo A, e *neoformans* correspondendo ao sorotipo D. O sorotipo A prevalece na clínica e em isolados ambientais na maioria das áreas, exceto no norte de países europeus, onde o sorotipo D é responsável por 50% dos isolados. O sorotipo AD foi isolado do ambiente em pacientes na América do Norte e Europa (AGUIAR *et al.*, 2017; ANGARITA-SANCHEZ *et al.*, 2019; VILAS-BÔAS *et al.*, 2020).

Com o avanço de técnicas moleculares foi possível determinar o genótipo de *C. neoformans*, permitindo a identificação de quatro tipos moleculares da espécie criptocócica do mundo: VNI e VNII para *C. neoformans var. grubii* sorotipo A, VNIV para *C. neoformans var. neoformans* isolados do sorotipo D e VNIII para híbridos entre os sorotipos A e D (CUOMO; RHODES; DESJARDINS, 2018; FIRACATIVE *et al.*, 2018).

3.1.1 Morfologia e identificação

Espécies de *Cryptococcus* configuram-se como leveduras haploides, capsuladas, ovaladas, arredondadas, de 5 a 7 µm de diâmetro quando cultivadas em

laboratório, podendo se reproduzir assexuadamente por brotamento em vida parasitária ou no meio ambiente, e sexuadamente com formação de hifa, basídio e basidiósporos (CHAMON JÚNIOR, 2016; MAY *et al.*, 2016; OLIVEIRA, 2017).

Em meios tradicionais de cultura, como o ágar Sabouraud a temperaturas entre 28° e 37°C, as colônias apresentam cor esbranquiçada, com margens lisas e de aparência mucóide. No meio de cultura ágar Niger, as colônias de *C. neoformans* adquirem coloração marrom, devido à atividade fenoloxidase em presença de substrato contendo compostos fenólicos (TAPIA, 2014; COLOMBO, 2015).

Durante a infecção, a levedura pode sofrer alterações em sua morfologia originando as células atípicas, denominadas de titãs, que podem ter até 100 µm de diâmetro. Possuem parede celular espessa e cápsula densa e reticulada quando comparadas às células cultivadas *in vitro*. Além disso, estas células aumentam a quitina da parede celular, que está associada a uma resposta imune anti-inflamatória prejudicial ao organismo (MUKAREMERA, 2017).

Ressalta-se que *Cryptococcus neoformans* é morfologicamente bem próxima de *Cryptococcus gattii*, outra espécie causadora da criptococose. Para diferenciá-las, utiliza-se canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB). *C. neoformans* é sensível a L-16 canavanina, por não utilizar a glicina como única fonte de carbono e nitrogênio, assim não exibe mudança na coloração do meio na presença de canavanina. *C. gattii*, por sua vez, utiliza a glicina como fonte de carbono e nitrogênio e por isto é resistente a L-canavanina, sendo então, capaz de crescer no meio, elevando assim o pH e alterando a cor do indicador de pH, o azul de bromotimol para azul cobalto (ARAÚJO, 2015; DESTRO, 2016).

3.1.2 Mecanismos de virulência

Apesar de existir mais de 1,5 milhão de fungos, apenas alguns são capazes de crescer a temperaturas elevadas, incluindo a temperatura do corpo humano (37°C), como é o caso de *Cryptococcus* spp., as únicas que crescem bem em altas temperaturas. O crescimento a 37°C pode proteger essas leveduras contra o acúmulo de mutações deletérias, sugerindo um papel para essa característica na estabilidade genômica, além de contribuir para a patogênese em um hospedeiro mamífero. Portanto, *Cryptococcus* spp. apresentam inúmeros mecanismos de virulência, dos quais se ressalta a propensão de crescer a 37° C, apresentar cápsula e produção de

melanina e enzimas. Estes mecanismos, portanto, tem sido alvos de muitas pesquisas que visam identificar quais genes estão envolvidos no processo de virulência e para determinar o grau de patogenicidade, assim como, as características e estado imunológico do hospedeiro (CHAMON JÚNIOR, 2016; ESHER; ZARAGOZA; ALSPAUGH, 2015).

A melanina é sintetizada a partir de substratos endógenos, por meio de 1,8-dihidroxi-naftaleno (DHN) intermediário e da di-hidroxifenilalanina (L-DOPA). Desse modo, a melanina protege as células criptocócicas contra oxidantes, derivados de oxigênio e nitrogênio, produzidos pelas células efetoras do hospedeiro. Além disso, células melanizadas de *Cryptococcus* spp. são mais resistentes à fagocitose e menos propensas ao agente antifúngico anfotericina B do que as células não melanizadas (ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015; BRILHANTE *et al.*, 2017). Essa levedura possui uma cápsula que é estimulada em resposta a várias condições associadas ao hospedeiro, como pH, altos níveis de CO₂ e privação de ferro, necessários para a sobrevivência de fungos no hospedeiro. A estrutura capsuloide é composta por dois polímeros, glucuronoxilomanano (GXM) (90%) e galactoxilomanano (GalXM), com pequenas contribuições de nanoproteínas. A cápsula envolve o exterior da parede celular e a ela é ancorada por uma interação do GXM com α -1,3-glucana, quitina e quitosana (ALSPAUGH, 2015; CAMACHO *et al.*, 2017; AGUSTINHO; MILLER; DOERING, 2018).

A enzima urease é considerada o principal mecanismo de virulência criptocócica. Catalisa a hidrólise da ureia em dióxido de carbono e amônia, e a amônia gerada pode servir como fonte de nitrogênio. Como a ureia é distribuída uniformemente por todo o corpo humano, é aceitável que seja usada como nutriente pelos patógenos. Além de seu papel nutricional, a urease auxilia na fuga de fungos do pulmão para atravessar a barreira hematoencefálica, mas não é necessária para o crescimento de fungos uma vez dentro do cérebro (ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015; FU *et al.*; 2018).

A proteinase, por sua vez, é considerada um fator determinante para a manutenção da infecção e disseminação fúngica no hospedeiro, pois é responsável pela degradação de proteínas, como colágeno, elastina, fibrinogênio, imunoglobulinas e fatores do complemento originando danos nos tecidos do hospedeiro e provendo nutrientes ao patógeno. Esta degradação dos componentes celulares do hospedeiro pode proteger o patógeno da resposta imune, assim como auxiliar as células fúngicas

a escapar dos fagolisossomos (OLIVEIRA, 2017). Já a produção de manitol eleva a pressão intracraniana em pacientes com meningoencefalite ao provocar o aumento da pressão osmótica e de forma semelhante à melanina, o manitol interfere na morte oxidativa realizada pelas células fagocíticas do hospedeiro e a produção de prostaglandinas modulando a resposta imune (VIEIRA JÚNIOR, 2015; ANDRADE; SANTOS, 2017).

3.2 Criptococose e Meningite Criptocócica

A criptococose é uma infecção fúngica importante, que tem como agentes principais *C. neoformans* e *C. gattii*. *C. neoformans* é um patógeno oportunista que causa mais de 90% dos casos de criptococose, acometendo principalmente pacientes HIV positivos e com sistema imune comprometido, enquanto *C. gattii* afeta mais indivíduos saudáveis (FANG, FA, LIAO, 2015; ARECHAVALA *et al.*, 2018; FIRACATIVE *et al.*, 2018).

Embora ocorra mundialmente, estudos sobre a distribuição de *C. neoformans* e *C. gattii* mostram que grande parte dos casos ocorre na África e Ásia, seguidas da América Central e do Sul. O Brasil ocupa o quarto lugar quanto ao número de isolados, ficando atrás da China, África do Sul e Estados Unidos (PIZANI; SANTOS, 2017).

Cryptococcus neoformans tem mais preferência por estabelecer doença nos pulmões causando infecção pulmonar primária, podendo ocasionar infecção disseminada que pode afetar o SNC, causando meningite, encefalite ou meningoencefalite. As manifestações clínicas podem variar de uma colonização assintomática do trato respiratório a uma septicemia, isso vai depender da situação imunológica do hospedeiro. Outros locais que são infectados com menos frequência são: pele, próstata, olhos, ossos e articulações (GULLO, 2013; MAZIARZ, PERFECT, 2016).

A meningite criptocócica, ocasionada quando o fungo atinge o SNC e as meninges, causa cerca de 957.900 casos anualmente, resultando em 624.700 mortes dentro de três meses após a infecção. O maior número de casos ocorre na África subsaariana, onde é a quarta principal causa de mortalidade, sendo responsável por mais de 600.000 mortes por ano (ADAMS, 2016; CHIMOWA, 2018).

A infecção pulmonar é mais comum em pacientes imunocomprometidos. Quando se desenvolve pode causar quadros assintomáticos ou apresentar sintomas que remetem a outras patologias como tuberculose, pneumonias e casos de

insuficiência respiratórias. O acometimento do SNC é a implicação mais crítica da criptococose devido à alta letalidade e sequelas neurológicas extenuantes entre os sobreviventes. Na pele, se apresenta na forma de pápulas, abscessos, celulite, lesões acneiformes, seios na drenagem ou inchaços subcutâneos (LIU, K. *et al.*, 2016; PEREIRA, 2018; HUANG *et al.*, 2019). O principal fator de risco está em indivíduos com HIV, transplantados, com leucemias agudas ou linfomas e em terapia imunossupressora, incluindo esteroides. Os principais sintomas são dor de cabeça que pode durar várias semanas, rigidez no pescoço, vômito, febre e alterações na função cognitiva. O tempo médio desde a infecção até o surgimento dos sintomas é de 6 a 12 semanas (GUO, 2016; LIU, Y. *et al.*, 2016; WILLIAMSON, 2016; MING; HARRISON, 2017).

O diagnóstico pode ser feito por detecção do antígeno criptocócico (CrAg), polissacarídeo da cápsula criptocócica que é liberada no soro e no líquido cefalorraquidiano (LCR), portanto, um marcador da presença do fungo. A detecção de CrAg depende geralmente de anticorpos monoclonais específicos usando o método de aglutinação do látex (LA) ou ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) (PERFECT; BICANIC; 2015; CHAMMARD, 2018). A identificação microscópica do organismo pode ser feita usando coloração com tinta nanquim ou observação com um microscópio de contraste de fase. A tinta nanquim vai corar o material circundante de azul, mas não a cápsula fúngica (MING; HARRISON, 2017).

A escolha do tratamento depende das condições do paciente, como o estado imunológico e o sítio da infecção, e pode variar conforme com o tipo da infecção (GULLO, 2013; PERFECT; BICANIC; 2015; PEREIRA, 2018). O tratamento de indução deve incluir formulações lipídicas de anfotericina B e flucitosina, seguido de fluconazol. Se na terapia não for possível incluir flucitosina, então esta deve ser substituída por formulações lipídicas de anfotericina B. Sem tratamento, a doença progride e os sintomas se estendem a convulsões, nível reduzido de consciência e eventualmente coma (WILLIAMSON, 2016; CLAUSTRE, 2018).

3.3 Antifúngicos

A incidência de infecções fúngicas invasivas elevou-se rapidamente devido ao aumento de indivíduos imunocomprometidos e com múltiplas comorbidades, ao surgimento de novas espécies fúngicas e a um progresso substancial no diagnóstico dessas infecções. Recentemente, foi estimado que mais de 300 milhões de pessoas

são diagnosticadas com doenças fúngicas graves e cerca de 1,5 a 2 milhões de mortes ocorrem anualmente (LAZZARINI, *et al.*, 2018; SAGATOVA *et al.*, 2018).

Os agentes antifúngicos são componentes essenciais no tratamento de pacientes com infecções fúngicas. Contudo, as opções terapêuticas são extremamente limitadas devido ao número insuficiente de classes de medicamentos antifúngicos, bem como, o uso disseminado que está trazendo serias implicações para o tratamento, devido a eclosão de cepas resistentes que suprime as classes de medicamentos disponíveis como opções de recursos terapêuticos (COWEN *et al.*, 2015; FUENTEFRÍA *et al.*, 2018).

A criptococose foi classificada como a quinta doença infecciosa mais letal, atrás da AIDS, tuberculose, malária e diarreia. O atual arsenal antifúngico disponível para o tratamento da criptococose é limitado a três drogas, usadas isoladamente ou em combinação: anfotericina B desoxicolato (AMB), flucitosina (5-fluorocitosina ou 5-FC) e fluconazol (FLC) (RODRIGUES, 2018; SPADARI, *et al.*, 2020).

A anfotericina B, desenvolvida na década de 1950, é usada nas formas mais graves de criptococose. Contudo, o período de administração é limitado devido aos seus efeitos nefrotóxicos e hepatotóxicos. O fluconazol, por sua vez, é utilizado no tratamento da criptococose devido à sua alta eficácia e baixa toxicidade. Embora esses aspectos tenham tornado a droga de escolha para o tratamento a longo prazo, a incidência de resistência fúngica está aumentando e alguns efeitos colaterais associados ao seu uso a longo prazo (RODRIGUES, 2018; SÁ *et al.*, 2019).

É evidente que os atuais antifúngicos são tóxicos, pois certamente interagem com outros fármacos, que possuem um espectro de atividade restrito ou causam resistência a fungos. Por conseguinte, faz-se necessário a utilização de novos antifúngicos, teoricamente, mais ativos, seguros e seletivos (CAMPOY; ADRIO, 2017; LAZZARINI *et al.*, 2018). Dentro desta proposta, a utilização de substâncias oriundas das plantas tem sido uma excelente alternativa.

3.5 Etnobotânica

A etnobotânica busca o conhecimento sobre a relação entre a flora e a humanidade, contribuindo para o conhecimento científico. À vista disso, os primeiros estudos botânicos buscavam categorizar as plantas de acordo com suas características e uso. Portanto, o conhecimento sobre as plantas pode resultar tanto de pesquisas voltadas para a organização das informações sobre a utilização de

espécies pela sociedade atual, quanto da investigação da relação entre a população e plantas no decorrer da história (PAIXÃO, 2020; VIEIRA, 2021).

No Brasil, a região semiárida contém uma quantidade expressiva de biodiversidade associada à diversidade cultural. Nos últimos anos, estudos etnobotânicos realizados na região semiárida brasileira apontaram que as famílias *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae* e *Euphorbiaceae* são as mais significativas em termos de uso. *Euphorbiaceae* apresenta várias espécies que abrangem diferentes categorias de uso, particularmente os gêneros *Croton L.*, *Euphorbia L.* e *Jatropha L.*, sendo a categoria medicinal a mais significativa para as espécies desta família (CREPALDI *et al.*, 2016).

Dentre os trabalhos etnobotânicos que citam *J. mollissima*, tem-se o de Oliveira *et al.* (2007), realizado na comunidade do município de Caruaru em Pernambuco, que identificaram 21 espécies de plantas medicinais de uso local, e dentre as quais citaram *J. mollissima* como apresentando em suas sementes e látex, atividade cicatrizante de feridas; o de Linhares *et al.* (2015) que citam 24 espécies cultivadas distribuídas em 16 famílias, realizado em comunidades de Alcântara no Estado do Maranhão sobre a utilização de plantas como método terapêutico, das quais *Euphorbiaceae* (16,66%) foi a mais representativa em número de espécies e sendo as sementes da espécie *J. mollissima* utilizadas para tratar de dores no corpo e trombose. Lemos e Araújo (2015), ao analisar o uso de plantas medicinais pelos moradores da comunidade Curral Velho, município de Luís Correia no Estado do Piauí, registrou *J. mollissima* na utilização para cicatrização. Já Medeiros *et al.* (2019), registrou o uso de folhas da espécie como analgésico pela população paraibana e Marques *et al.* (2020), que registraram folhas e frutos *J. mollissima* utilizados como analgésicos para tratar dor de dente em comunidades ribeirinhas da Ilha das Onças, Barcarena, no Pará.

3.4 Plantas medicinais e fitoterápicos

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), planta medicinal é todo vegetal que contém substâncias que podem ser empregadas para fins terapêuticos ou precursores de substâncias utilizadas para tais propósitos. O fitoterápico, por sua vez, é o medicamento obtido utilizado exclusivamente de matérias-primas vegetais e é caracterizado pelo conhecimento de sua eficácia e dos

riscos do seu uso, assim como, pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade (PEREIRA *et al.*, 2015).

A eficácia desses fitoterápicos está relacionada as substâncias produzidas pelas plantas que são os metabólitos secundários, que pode ocorrer pela via do ácido chiquímico, precursor de taninos hidrolisáveis, cumarinas, alcaloides derivados dos aminoácidos aromáticos e fenilpropanoides, e podem ser derivados do acetato que são esteroides, ácidos graxos, terpenoides e triglicerídeos (SILVA *et al.*, 2017).

A humanidade já utilizava as ervas para fins medicinais desde o início de sua história e muito antes do surgimento da escrita. Como Hipócrates, conhecido como o “Pai da Medicina”, na obra *Corpus Hippocratium*, constata-se que para cada doença existe uma droga a base de planta usada como terapia. O botânico grego Teofastro, na obra *Tratado de Odores*, cita as propriedades medicinais das plantas, como preparar e utiliza-las. Atualmente, as plantas medicinais são empregadas pela população como uma forma medicinal alternativa para o tratamento de diversas enfermidades. Os produtos naturais à base de plantas medicinais têm se mostrado uma fonte abundante de compostos biologicamente ativos, muitos dos quais têm sido a base para o desenvolvimento de novos produtos químicos pela indústria farmacêutica (CARNEIRO *et al.*, 2014; ALVES; SILVA *et al.*, 2019).

No Brasil, o uso de ervas para fins medicinais é uma prática comum, reforçada pela diversidade cultural advinda da colonização por populações europeias e africanas e pelo conhecimento tradicional indígena. Atualmente, estimativas da OMS afirmam que 80% da população mundial ainda dependem da medicina tradicional e mais de 50% dos medicamentos utilizados, têm origem de produtos naturais e seus derivados. Além disso, apenas 1% das espécies tropicais foram estudadas e a proporção é menor para espécies nativas de áreas chuvosas tropicais, representando um grande conjunto de possíveis drogas (MELRO *et al.*, 2020; PIO *et al.*, 2019; VARGAS-SINISTERRA *et al.*, 2018).

No ano de 2006, o Ministério da Saúde criou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), oferecendo aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), em especial na Atenção Primária à Saúde (APS), o uso de plantas medicinais e fitoterapia, como meios terapêuticos. No mesmo período foi implementado a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que promove e reconhece as práticas populares de uso de plantas medicinais e fitoterápicos. Diante disso, em 2009 foi publicado a *Relação Nacional de Plantas*

Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), partindo de uma lista preliminar de 237 espécies de plantas. Atualmente somente 71 espécies compõem essa lista, entre as quais incluiu plantas usadas na medicina popular e cujos efeitos têm comprovações científicas. Dentre as plantas presentes na lista, algumas pertencem a família *Euphorbiaceae*, como a espécie *Jatropha gossypifolia* e a *Croton cajucara* (CASTRO; FIGUEIREDO, 2019; MARMITT *et al.*, 2016; MATTOS *et al.*, 2018; ZENI *et al.*, 2017).

Esse cenário, associado às limitações das farmacoterapias atuais, fez com que as indústrias farmacêuticas considerassem os recursos da natureza como uma importante fonte de matéria-prima para novos medicamentos. Além disso, o retorno aos princípios de tratamento de algumas doenças, bem como, a atual capacidade da ciência de provar a eficácia e a segurança das plantas utilizadas como medicamento, também desempenha um importante papel (CARDOSO; OLIVEIRA; CARDOSO, 2019; PIO *et al.*, 2019).

3.6 Metabólitos secundários das plantas

Os metabólitos secundários desempenham diversas funções importantes para a adaptação e a propagação das espécies vegetais. De estrutura complexa e baixo peso molecular, possuem uma gama de atividades biológicas importantes. Cerca de 50 mil metabólitos secundários já foram descritos em espécies de angiospermas, e são sintetizados em diferentes organelas, por quatro vias de biossíntese, são elas: via do acetato malonato, do metileritritol fosfato (MEP), do ácido mevalônico (MEV), e do ácido chiquímico (OLIVEIRA, 2015; REZENDE *et al.*, 2016; SILVA; LIMA, 2015). Esses elementos orgânicos são encontrados em plantas de todas as regiões, em toda sua estrutura (folhas, caules e raízes) e em variadas quantidades, sua produção pode ser estimulada através de estresses bióticos e abióticos, como, a alta temperatura, radiação solar e estresse hídrico (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Para a determinação de substâncias secundárias são realizados testes fitoquímicos, que mostram as principais classes desses metabólitos, como a utilização de técnicas cromatográficas e analíticas que separam e isolam os componentes para o entendimento da formação química, bem como, para a padronização do insumo vegetal e produtos relacionados (SOUZA *et al.*, 2017).

Como exemplo de metabólitos secundários, temos os alcaloides, os terpenos e os flavonoides, que representam classes químicas extensas no grupo das substâncias fenólicas de origem vegetal. Dentre as atividades biológicas descritas para estas

classes, citam-se; ação antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana, antiparasitária, antiviral, dentre outras (OLIVEIRA, 2015).

As plantas possuem a capacidade de armazenar ácidos orgânicos no interior dos vacúolos, estes compostos secundários possuem ação bacteriostática em bactérias do grupo gram-negativa e podem ser utilizados como aditivo na indústria de alimentos. Outros metabólitos secundários, são as saponinas que demonstram ter propriedades de detergentes e surfactantes. As saponinas também podem agir como antioxidante, em que se ligam a sais biliares e colesterol no tubo digestivo, bem como, no combate a células tumorais (CUNHA *et al.* 2016; MENEZES FILHO; CASTRO, 2019).

Os esteroides possuem em suas estruturas 28 a 29 átomos de carbono e a presença de um radical metila ou etila originando uma ramificação, esses compostos se destacam por apresentarem alguns benefícios como redução dos níveis de colesterol no sangue e inibição do aparecimento de tumores malignos. Também podem ser atribuídos ações farmacológicas aos taninos que são divididos em dois grupos hidrolisados e condensados, são empregados na medicina contra algumas patologias como hipertensão, problemas estomacais, queimaduras, assim como, apresentam atividade antifúngica, bactericida e antiviral (CUNHA *et al.* 2016; OLIVEIRA, ALMEIDA, 2016).

As cumarinas apresentam uma grande variedade de atividades farmacológicas e bioquímicas. Dentre elas atividade antioxidante, hepatoprotetora, anti-inflamatória, anti-histamínica, anti-prurídica, acaricida, antiulcerogênica, antimelanogênica e são utilizadas no tratamento de dislipidemias (MENEZES FILHO; CASTRO 2019; SILVA *et al.*, 2021a).

As plantas da família *Euphorbiaceae* possuem numerosos metabólitos secundários, como saponinas, terpenos, ésteres, taninos, alcaloides e flavonoides. O gênero *Jatropha*, apresenta diversas fontes de metabólitos, tais como terpenos, peptídeos cíclicos, lignanos, neolignanos, sesquieneolignas, flavonoides, cumarinas, lignanas cumarino, alcaloides e ácidos eudesmenóicos (CAVALCANTE; SANTOS; ALMEIDA, 2020 TRINDADE; LAMEIRA, 2014).

3.7 *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill

Jatropha mollissima (Pohl) Baill, pertence ao gênero *Jatropha*, família *Euphorbiaceae*. Este gênero foi relatado pela primeira vez em 1737, pelo botânico

sueco Carollus Linnaeusu. O nome *Jatropha*, vem do grego "iatros" significando (médico) e "trophe" (comida), que está relacionado com as propriedades medicinais das plantas deste gênero. Este apresenta cerca de 175 espécies, amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da África e das Américas (CAVALCANTE; SANTOS; ALMEIDA, 2020; GOMES *et al.*, 2016).

A espécie é conhecida popularmente no Brasil como "pinhão-bravo", é considerada endêmica no semiárido brasileiro. Tem como características morfológicas portes arbustivos com cerca de 2 a 3m de altura, apresentando látex claro, caule com cicatrizes peciolares e folhas com cinco lobadas, de pecíolos longos pecioladas e com pilosidade nas faces pubescentes (Figura 1A) (BIGIO; SECCO; MOREIRA, 2021; DIAS *et al.*, 2019; LIMA, 2015). As flores são pentâmeras e diclamídeas. Nas flores pistiladas o ovário é súpero e trilobular e as flores estaminadas possuem coloração amarela e deiscência rimosa (Figura 1B). O fruto é capsular (Figura 1C), seco, com deiscência longitudinal através da ruptura paralela ao eixo do fruto. Apresenta coloração verde claro quando imaturo, adquirindo uma tonalidade escura conforme amadurece. Suas sementes são glabras (Figura 1D), com carúncula evidente, testa lisa, brilhante e de cor marrom-ferrugínea (LEAL; AGRA, 2005; VASCONCELOS *et al.*, 2014; WALTER, 2020).

Figura1 - *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Detalhe da folha; B. Inflorescência; C. Fruto; D. Semente.



Fonte: Autores, 2021.

Jatropha mollissima é empregada de diversas formas na medicina popular. O látex e as folhas apresentam atividade antibacteriana (BRAQUEHAIS *et al.*, 2016; ROCHA; DANTAS, 2009). Outras propriedades são efeito anti-helmíntico, antioxidante, hipotensor e estimulante dos músculos lisos do intestino e do útero (BRAQUEHAIS *et al.*, 2016). Estudando o extrato aquoso de folhas, Gomes *et al.*, (2016) verificaram também potencial para o tratamento de picadas de serpentes das espécies *Bothrops erythromelas* e *Bothrops jararaca*.

Atividade antimicrobiana foi observada no látex de *J. mollissima* por Camelo (2015), que detectou CIM maior que 8192 µg/mL-1 para bactérias Gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) e para as Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*). Portanto, a atividade antimicrobiana do látex e de extratos produzidos de folhas podem ter relação com a ação de compostos fenólicos, taninos, alcaloides, flavonóis e flavanonas, presentes no látex e nos extratos (Tabela 1). Essas moléculas bioativas causam hidrólise de ligações ou formam complexos com proteínas das bactérias, causando a desagregação da membrana plasmática e parede celular da bactéria, levando a destruição do microrganismo (BRAQUEHAIS *et al.*, 2016; DIAS *et al.*, 2019; QUEIROZ NETO *et al.*, 2019).

Tabela 1 – Presença de metabólitos secundários presentes na planta *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (Pinhão-bravo).

Metabólitos secundários de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Bail	Parte da Planta	Autores/Ano
Fenóis; taninos; flavonóis; flavanonas e alcaloides.	Folha	BRAQUEHAIS <i>et al.</i> , 2016.
Fenóis; taninos; flavonóis e saponina.	Látex e folha	QUEIROZ NETO <i>et al.</i> , 2019.
Fenóis; taninos; flavonóis; flavanonas e saponina.	Folha	DIAS <i>et al.</i> , 2019.

Em estudo recente, Rahu *et al.* (2021) investigaram a atividade antimicrobiana de extratos de *Jatropha curcas* obtidos de diferentes partes da planta, constatando atividade contra *Escherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Klebsiella pneumoniae*, assim como, para fungos patogênicos *Aspergillus niger* e *Penicillium notatum*.

Compostos fitoquímicos também foram analisados em diferentes partes da planta como composto fenólico total, alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, terpenoides e cumarina. As saponinas apresentam potencial antiviral, antifúngico e desempenham um papel importante na prevenção do câncer e de algumas outras doenças. Os terpenoides são conhecidos como agentes antioxidantes sendo fundamental na medicina convencional e moderna para curar doenças inflamatórias.

Portanto, a realização de pesquisas sobre plantas medicinais evidencia características químicas e é fundamental para garantir a autenticidade, pureza e integridade das plantas medicinais, assim como, assegurar sua efetividade e segurança como forma terapêutica (PEREIRA *et al.*, 2019; SOUZA, 2017).

4 METODOLOGIA

4.1. Meios e reagentes utilizados

Os meios de cultura utilizados foram: *Ágar Sabouraud Dextrose* e BHI (*Brain Heart Infusion*) da marca KASVI e RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute*). Os reagentes usados durante os procedimentos foram: Álcool isopropílico P. A - ACS da marca Dinâmica, álcool etílico 92,8% e álcool metílico P. A - ACS da marca Cromoline, água salina a 0,85%, reativo de Pascová A e B, raspas de magnésio da marca Êxodo Científica, solução alcoólica de cloreto férrico (FeCl₃) a 1%, ácido clorídrico (HCL), reativo de Mayer, dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% e reativo de Bouchardat.

4.2 Coleta de amostras

4.2.1 Amostras de *Cryptococcus neoformans*

As amostras de *Cryptococcus neoformans* foram obtidas no período de 2014 a 2016, a partir de excrementos secos de pombos e outras aves, em residências e *petshops* da cidade de Parnaíba no Estado do Piauí, de latitude 2° 54' 14" sul e longitude 41° 46' 35" oeste. As amostras passaram pelo processo de caracterização seguindo a metodologia de Sidrim (2004) e permaneceram acondicionadas em caldo BHI e mantidas sob refrigeração no laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAR).

4.2.2 Coleta de material vegetal

As folhas de *Jatropha mollissima* foram obtidas no município de Caxingó no Estado do Piauí, de latitude 3° 25' 03" sul e longitude 41° 53' 46" oeste, às 10:09 horas e enviadas para a Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAR). Exemplar da planta foi coletado e tombado no Herbário do Delta do Parnaíba (HDELTA) sob o número 6723.

4.3 Processamento das amostras

4.3.1 Recuperação das amostras de *Cryptococcus neoformans*

As amostras de *Cryptococcus neoformans* tiveram que passar por um processo de fortalecimento, pois seus metabolismos encontravam-se inativos devido ao acondicionamento em refrigeração. O meio de cultura utilizado foi o caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), utilizado para a recuperação de microrganismos exigentes ou não. O caldo BHI possui em sua composição infusão cérebro-coração e peptona que servem de fonte de nitrogênio, carbono e vitaminas, além disso, contém glicose. Após adição do meio, as amostras foram incubadas a 37°C por 48 horas em estufa microbiológica.

Posteriormente, ao enriquecimento das amostras, foi realizado o repique em ágar *Sabouraud Dextrose*. Esse meio é seletivo para isolamento de fungos devido a sua alta concentração de dextrose e o pH ácido, assegurando sua pureza e viabilidade. Sendo incubadas em estufa a 37°C por 48 horas.

4.3.2 Preparo dos extratos vegetais

Folhas foram coletadas, higienizadas com água corrente, posteriormente desidratadas em estufa a 40°C e trituradas em um triturador elétrico.

Para a obtenção dos extratos foliares foram usados os solventes extratores álcool etílico 92,8%, álcool isopropílico P.A e álcool metílico P.A. A partir das folhas trituradas foi obtido o pó, que para 100 ml de cada solvente foi pesado 10 g de pó, armazenados em *Erlenmeyer* envolto em papel madeira para que não ocorresse a interferência da luz. Logo após, foi realizada a agitação desses preparos durante 24 horas, sem aquecimento. Após agitadas, as soluções foram filtradas em papel filtro e colocadas em placas de Petri em estufa com circulação de ar durante 5 dias para a completa secagem e eliminação dos resíduos dos solventes através da evaporação.

Após a secagem completa, os subprodutos foram raspados, colocando-se 0,04 g em microtubos de 2 ml. Em seguida, foram diluídos em DMSO e RPMI, até a

obtenção de uma concentração de 4000 µg/ml e foram agitados em vórtex. Logo após foram filtrados em filtro de seringa (0,22 µM). Calculou-se o rendimento total dos extratos usando a seguinte fórmula:

$$R (\%) = (M_{\text{Final}} / M_{\text{Inicial}}) \times 100$$

Onde M_{Final} é a massa do extrato seco e M_{Inicial} é o material vegetal utilizado para a preparação do extrato (10g).

4.3.3 Microdiluição

Para a realização da microdiluição foi utilizado o meio sintético RPMI-1640 (com glutamina, sem bicarbonato e com indicador vermelho de fenol). A formulação desse meio e sua preparação está de acordo com o CLSI M27-A2 (*Clinical Laboratory Standards Institute*). O meio foi tamponado a pH 7,0 ± 0,1 em temperatura de 25°C. É importante selecionar uma solução tampão que não antagonize o agente antifúngico, a solução-tampão considerada satisfatória nos testes de sensibilidade a antifúngicos é o MOPS [ácido 3-(N-morfolino) propanosulfônico] (concentração final de 0,165 mol/L, pH 7,0). O pH de cada lote de meio foi verificado com um medidor de pH imediatamente após sua preparação, o pH pode variar de 6,9 a 7,1 à temperatura ambiente (25°C).

4.3.4 Preparo do inóculo

As amostras foram repicadas em placas com ágar *Sabouraud Dextrose*, para assegurar a viabilidade e pureza, sendo incubadas a 37°C durante 48 horas. O inóculo foi preparado escolhendo-se colônias isoladas de *C. neoformans*. Posteriormente, as colônias foram suspensas em 5mL de solução salina estéril 0,145 mol/L (8,5g/L NaCl; salina a 0,85%). A suspensão resultante foi levemente homogeneizada e a densidade celular ajustada com espectrofotômetro, acrescentando-se solução salina suficiente para obter a transmitância equivalente de uma solução-padrão da escala de McFarland 0,5, em comprimento de onda de 530nm, fornecendo uma suspensão-padrão contendo 1 x 10⁶ a 5 x 10⁶ células por ml. A suspensão de trabalho foi produzida fazendo-se uma diluição 1:100 seguida de uma diluição de 1:20 da suspensão-padrão com meio líquido RPMI 1640, resultando em concentração de 5,0 x 10² a 2,5 x 10³ células por ml.

4.3.5 Inoculação no meio RPMI

A inoculação no meio RPMI foi realizada na capela de fluxo laminar com todos os equipamentos devidamente esterilizados. Em placas de 96 poços, foi adicionado 100 µl de RPMI até a 11ª coluna e na 12ª foi pipetado 100 µl que foi o controle negativo, pois nela foi aplicado somente o RPMI. Em seguida, 200 µl dos extratos foram adicionados em duplicata na primeira coluna, após a aplicação realizou-se a diluição fracionada de 100 µl até a 10ª coluna e descartado o restante da solução. Posteriormente, foram inseridos 100µL da suspensão fúngica até a 11ª coluna que foi o controle positivo do teste, presente o RPMI e o inóculo.

4.3.6 Incubação e leitura dos resultados

As placas foram incubadas por 72 horas a 37°C. A leitura dos resultados foi realizada através da comparação visual da presença do precipitado no fundo dos poços, indicando o crescimento, com a coluna controle onde não houve o crescimento do agente fúngico.

4.4 Fitoquímica

Os extratos metanólico, isopropílico e etanólico das folhas de *Jatropha mollissima* foram submetidos à análise fitoquímica com reagentes para cada classe de metabólitos, baseando-se na metodologia de Barbosa *et al.* (2001).

Nessa avaliação qualitativa os resultados foram classificados em ausente (-) e presente (+).

4.4.1 Preparação das suspensões

Para a realização dos testes foi preparado suspensões. As primeiras suspensões foram realizadas utilizando tubos de Falcon, aos quais foram adicionados 0,2 g de cada extrato bruto e 20 ml de água destilada e para o preparo das segundas suspensões, foram utilizados 0,1 g de cada extrato para 10 ml de metanol.

4.4.2 Saponinas espumicida

Os tubos contendo as primeiras suspensões foram agitados em vórtex durante 2 min. Após a agitação, se for observado a presença de uma camada de espuma e está permanecer por mais de 30 minutos, o resultado será positivo para presença de saponinas.

4.4.3 Ácidos orgânicos

Primeiramente, foi realizado a preparação da solução reativa adicionando a um tubo de ensaio 1 ml do reativo Pascová A e 1 ml do Pascová B. Em tubos de ensaio contendo 1 ml das primeiras suspensões dos extratos, foram adicionadas duas gotas da solução reativa utilizando uma pipeta Pasteur em cada tubo. Ocorrendo descoloração do reativo, o resultado é positivo para ácidos orgânicos.

4.4.4 Alcaloides

Em tubos de ensaio foram adicionados 1 ml das primeiras suspensões dos extratos e logo após, duas gotas do reativo Bouchardat, resultando na presença de um precipitado laranja. Já, ao utilizar duas gotas do reativo de Mayer ocorre o aparecimento do precipitado branco, portanto, indicam a presença de alcaloides.

4.4.5 Flavonoides

Em tubos de ensaio contendo 3 ml das segundas suspensões dos extratos, foram adicionadas cinco gotas de ácido clorídrico (HCL) concentrado e raspas de magnésio. Ao final das reações pelo término de efervescência, o surgimento de coloração rósea, indica a presença de flavonoides.

4.4.6 Fenóis e taninos

Em tubos de ensaio foram adicionados 2 ml das primeiras suspensões dos extratos, em seguida duas gotas de solução alcoólica de Cloreto férrico (FeCl_3) a 1%. O aparecimento da tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, e verde, a presença de taninos condensados. Coloração variável entre o azul e o vermelho indica a presença de fenóis.

4.4.7 Flavononas

Em tubos de ensaio foram adicionados 3 ml das primeiras suspensões dos extratos, 0,5 ml de ácido clorídrico (HCL) concentrado e magnésio em raspas. Após o término da efervescência, pode-se observar o aparecimento ou intensificação da coloração vermelha, indicando a presença de flavononas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos extratos

Com a obtenção dos extratos das folhas de *Jatropha mollissima* foi possível efetuar o cálculo de rendimento dos extratos. Os resultados revelam que, o extrato metanólico mostrou maior rendimento em relação aos extratos obtidos dos solventes etanólico e isopropílico (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultado do rendimento dos extratos das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, proveniente do município de Caxingó, Piauí.

Rendimento	Extratos Foliares		
	Etanólico	Metanólico	Isopropílico
%	2,59%	3,57%	1,15%

A diferença observada no rendimento dos extratos pode estar relacionada a diversos fatores, tais como o método extrativo, o tempo de extração e principalmente a seleção do solvente como relatado por Mallman *et al.* (2021). Já Silva *et al.* (2021b), mencionam que existe a possibilidade de um metabólito secundário ser extraído em maior concentração, por possuir maior afinidade por determinado solvente extrator.

No estudo de Tiwiari *et al.* (2011), observaram que o solvente metanólico é capaz de extrair mais componentes do que o solvente etanólico, ou seja, alguns metabólitos bioativos têm melhor interação pelo solvente metanólico, como foi constatado nessa pesquisa.

5.2 Testes Fitoquímicos

A análise da caracterização fitoquímica qualitativa dos extratos metanólico, etanólico e isopropílico das folhas de *J. mollissima*, indicou a presença de compostos químicos provenientes do metabolismo secundário da planta, tais como ácidos orgânicos, alcaloides, saponinas, flavononas, fenóis e taninos. Somente o metabólito secundário flavonoide não foi detectado em nenhum extrato. Esses compostos foram classificados em ausente (-) e presente (+) (Tabela 3).

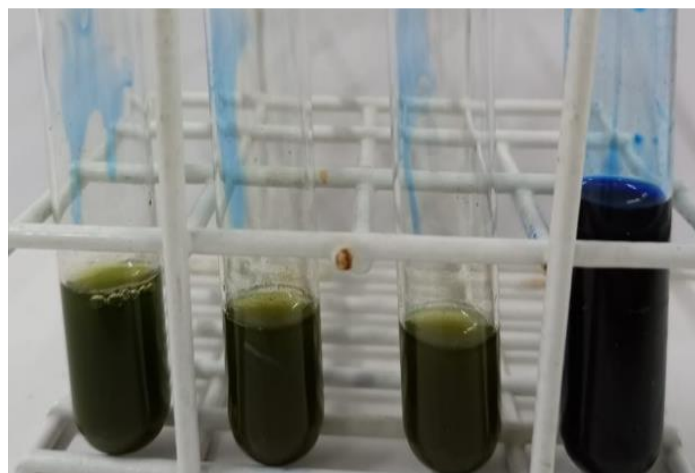
Tabela 3 - Análise qualitativa da fitoquímica dos extratos das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, coletada em Caxingó, PI.

Metabólito			
Secundário	Extrato Metanólico	Extrato Etanólico	Extrato Isopropílico
Ácidos orgânicos	++	-	-
Alcaloides	+	+	+
Fenóis e taninos	++	-	++
Flavononas	+++	-	+
Flavonoides	-	-	-
Saponinas espumicida	+++	++	+

Coloração intensa ou formação abundante de espuma (+++). Coloração média ou formação moderada de espuma (++) . Coloração fraca ou formação de pouca espuma (+). Ausência de cor ou formação de espuma (-).

Os ácidos orgânicos foram positivos apenas no extrato metanólico (Figura 2). Essa classe de composto bioativo possui importantes atribuições como: antibacteriano, aditivos para alimentos, antifúngico e na produção de cosméticos feitos à base de plantas (MENEZES FILHO; CASTRO, 2019). Estes ácidos orgânicos ficam acumulados nas plantas em vacúolos. Isto é comprovado no suco de frutas cítricas devido a presença do ácido cítrico. Entretanto, estes ácidos não são encontrados apenas nos frutos, mas também nas folhas de muitas plantas (DUARTE; MOTA; ALMEIDA, 2014).

Figura 2 - Presença de ácidos orgânicos no extrato metanólico de *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail.

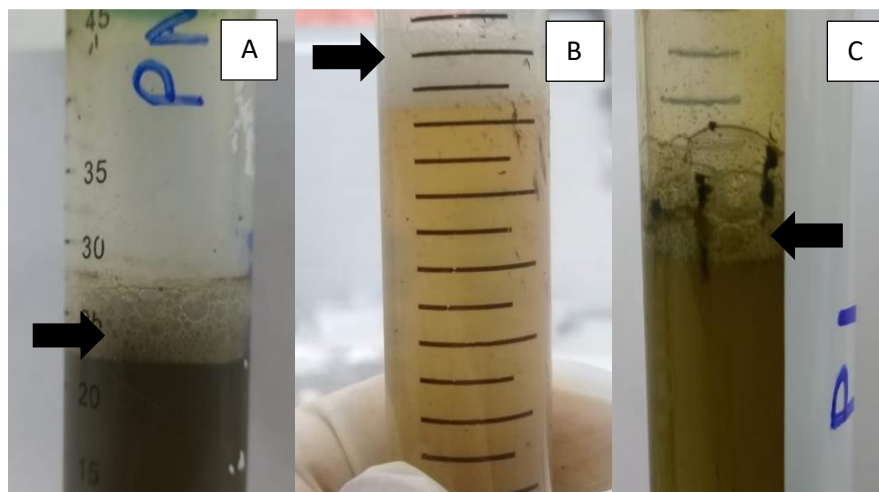


Fonte: Autores, 2021.

Os testes indicaram a presença de alcaloides em todos os extratos. Os alcaloides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados principalmente em angiospermas, apresentando ação antitumoral, anestésica, antimalárica, antibacteriana e repelente (OLIVEIRA; ALMEIDA, 2016). No estudo desenvolvido por Braquehais *et al.* (2016), com o extrato etanólico das folhas de *J. mollissima*, obteve resultado positivo para a presença de alcaloides, assim como, atribuiu a estes compostos atividade antimicrobiana.

A presença de saponina em todos os extratos também foi constatada na avaliação fitoquímica (Figura 3). Rocha (2013), atribui a esses compostos a capacidade de formar espuma abundante e persistente quando misturados em água, o que foi comprovado durante esse experimento. Já Ribeiro (2014), confirmou a presença de componentes saponínicos no extrato etanólico de *J. mollissima*, que apresentam ação antioxidante, citotóxica e larvicida. Além disso, Desoti, *et al.* (2011), relatou que as saponinas não contêm ação antibacteriana, mas sua atividade antifúngica para fitopatógenos, como *Candida* sp. e dermatófitos é notória, por meio de interação das saponinas com esteróis de membrana.

Figura 3 - Presença de Saponinas espumicida em extratos de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Extrato metanólico; B. Extrato etanólico; C. Extrato isopropílico. As setas pretas indicam a formação de espuma.

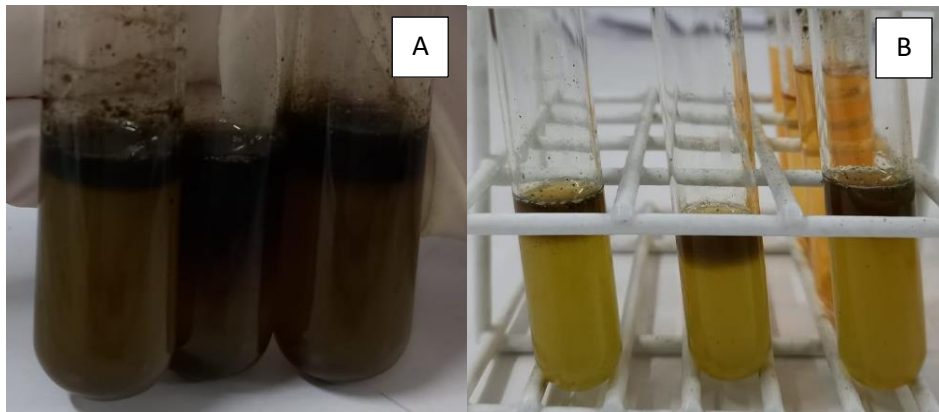


Fonte: Autores, 2021.

Fenóis e taninos foram detectados nos extratos metanólico (Figura 4A) e isopropílico (Figura 4B). Esse resultado está de acordo com o estudo de Dias *et al.* (2019), que confirmaram a presença desses metabólitos no extrato metanólico de *J. mollissima*. Oliveira e Almeida (2016), afirmam que os taninos são extensivamente

empregados na medicina tradicional contra uma gama de doenças, tais como hipertensão arterial, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, problemas renais e inflamatórios, bem como, apresentam atividade antifúngica, antibacteriana e antiviral. Já os fenóis, são considerados importantes elementos para a vida e adaptação das plantas, assim como, colaboram no combate de patologias em humanos (OLIVEIRA; ALMEIDA, 2016).

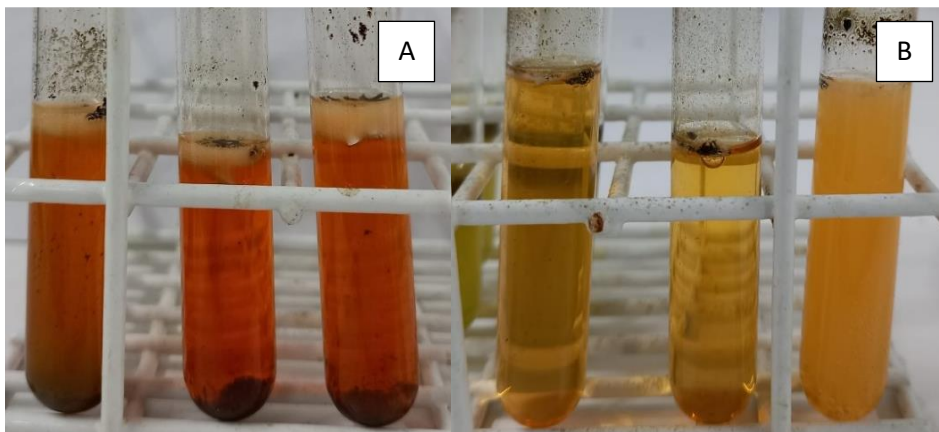
Figura 4 - Presença de Fenóis e taninos em extratos de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Extrato metanólico; B. Extrato isopropílico.



Fonte: Autores, 2021.

Outro composto derivado das folhas de *J. mollissima* durante a triagem fitoquímica foi flavononas (Figura 5), que exerce atividade antimicrobiana, antiviral, antiulcerogênica, hipolipidêmica, anti-hepatotóxica, hipolipidêmica, antineoplásica, antialérgica, anti-inflamatória, assim como, antioxidante que age combatendo os radicais livres (SILVA *et al.*, 2009; BRUM *et al.*, 2011).

Figura 5 - Presença de Flavononas em extratos de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. A. Extrato metanólico; B. Extrato isopropílico.



Fonte: Autores, 2021.

Com esses resultados, pode se confirmar que o extrato metanólico teve melhor resultado em relação a extração desses compostos bioativos. Entretanto, segundo Santos (2014), a presença ou ausência destes metabólitos testados pode ser decorrente de interações entre elementos do extrato ou a presença de certo constituinte, que pode anular a presença de outro, dando origem a resultados falso-positivos ou falso-negativos. Assim como, Mallman *et al.* (2021), relataram que existem condições ambientais que podem modificar a obtenção desses metabólitos como: sazonalidade, temperatura, acesso a água, altitude, ritmo circadiano, poluição atmosférica, bem como, a proteção contra patógenos que podem modificar a via metabólica e afetar na produção dessas substâncias biologicamente ativas.

5.3 Teste Antifúngico

Na análise *in vitro*, foi possível observar a eficiência dos extratos metanólico e isopropílico de *J. mollissima* que demonstraram o melhor resultado de inibição fúngica contra o *C. neoformans*, enquanto o extrato etanólico apresentou desempenho inferior aos outros extratos estudados.

Os resultados da concentração inibitória mínima (CIM) (Tabela 4) mostraram que os extratos metanólico e isopropílico apresentaram uma concentração de 250 µg/ml, entretanto, o extrato etanólico apresentou um valor de 1000 µg/ml. Miranda *et al.* (2015), ressalta que uma CIM inferior a 100 µg/mL apresenta boa atividade antimicrobiana, de 100 a 500 µg/ mL relativamente ativa, de 500 a 1000 µg/mL pouco ativa e maior que 1000 µg/mL, inativa. Portanto, foi constatada atividade antimicrobiana moderada para os extratos metanólico e isopropílico e para o etanólico, pouco ativa.

Tabela 4 - Demonstração da atividade antifúngica dos extratos das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, coletada em Caxingó, PI.

Amostra	Extratos Foliares		
	Etanólico	Metanólico	Isopropílico
Amostra de <i>C. neoformans</i>	1000µg/ml	250µg/ml	250µg/ml

Na literatura consultada, não foram encontrados relatos sobre o efeito fungicida de extratos da *J. mollissima* sobre a levedura de *C. neoformans*. Entretanto, outros estudos foram realizados com essa espécie e com outras do mesmo gênero contra outros microrganismos.

Assim como relatado em nossa pesquisa, outros trabalhos com extratos metanólicos provenientes de espécies de *Jatropha* também apresentaram resultados significativos com o uso desse extrato para avaliação da atividade antimicrobiana de espécies deste gênero. Hamza *et al.* (2006), ao testarem o potencial fúngico do extrato metanólico de *Jatropha multifida* L., popularmente utilizada no Brasil para tratamento de candidíase, evidenciaram inibição de 1000 µg/ml para *C. neoformans* e 250 µg/ml para *Candida tropicalis*, corroborando com os resultados obtidos neste presente estudo.

O solvente extrator etanólico não demonstrou bom desempenho na inibição do crescimento fúngico. Entretanto, alguns autores observaram a sua eficácia, tais como, Braquehais *et al.* (2016), que registraram CIM de 250 mg/ml contra as cepas de *Enterococcus faecalis*; Ayanbimpe *et al.* (2009) ao avaliarem o extrato etanólico das folhas de *J. mollissima*, constataram a inibição do crescimento de *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e *Penicillium expansum*. A diferença de resultado apresentado neste trabalho em relação aos dos autores citados, pode estar relacionada ao fato da planta ter sido obtida de locais e climas diferentes, o que de acordo com Costa *et al.* (2018), esses fatores podem influenciar na qualidade e quantidade de metabólitos secundários presentes na planta.

Apesar do extrato isopropílico ter apresentado bom resultado, na literatura foi verificado que seu uso no preparo de extratos vegetais não é muito rotineiro. Portanto, diante da gama limitada de estudos com isopropílico e do resultado significativo nesta pesquisa, é evidente a necessidade de novos estudos serem realizados para que as vantagens de seu uso se tornem mais conhecidas.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo com os extratos metanólico, isopropílico e etanólico das folhas de *Jatropha mollissima*, demonstrou a presença de metabólitos secundários, tais como ácidos orgânicos, alcaloides, saponinas, flavononas, fenóis e taninos, sendo o álcool metanólico o solvente extrator que demonstrou melhor desempenho. Os ensaios da atividade antifúngica *in vitro* mostraram que os extratos tem potencial inibitório contra o *Cryptococcus neoformans*. Contudo, são necessárias pesquisas futuras quanto ao isolamento e identificação dos compostos bioativos responsáveis pela inibição do crescimento fúngico.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, P. Cryptococcal meningitis: a blind spot in curbing AIDS. **The Lancet**, v. 387, n. 10028, p.1605-1606, abr. 2016.
- AGUIAR, P. A. D. F.; PEDROSO, R. S.; BORGES, A. S.; MOREIRA, T. A.; ARAUJO, L. B.; RODER, D. V. D. B. The epidemiology of cryptococcosis and the characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated in a Brazilian University Hospital. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, fev. 2017.
- AGUSTINHO, D. P.; MILLER, L. C.; LI, L. X.; DOERING, T. L. Peeling the onion: the outer layers of *Cryptococcus neoformans*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 113, n. 7, e180040, fev. 2018.
- ALMEIDA, F.; WOLF, J. M.; CASADEVALL, A. Virulence-associated enzymes of *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic cell**, v. 14, n. 12, p. 1173-1185, 2015.
- ALSPAUGH, J. A. Virulence mechanisms and *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. **Fungal genetics and biology**, v. 78, p. 55-58, mai. 2015.
- ALVES, Q. L.; SILVA, D. F. D-Limoneno: Uma molécula promissora com potencial bradicárdico e antiarrítmico. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 113, n. 5, p. 933-934, nov. 2019.
- ANDRADE, I. A.; SANTOS, I. R. Aspectos Morfofuncionais e Laboratoriais de *Cryptococcus* sp. Evidenciados na Criptococose. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 34-43, 2017.
- ANGARITA-SANCHEZ, A.; CARDENAS-SIERRA, D.; GIRALDO, C. M. P.; CARVAJAL, C. D.; ESCANDON, P. Asbleide et al. Recuperación de *Cryptococcus neoformans* y *C. gattii* ambientales y su asociación con aislados clínicos en Cúcuta, Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, v. 24, n. 1, p. 7137-7144, mar. 2019.
- ARAÚJO, E. C.; TÁPARO, C. V.; UCHIDA, C.; MARINHO, M. *Cryptococcus*: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 1003-1008, mai. 2015.
- ARECHAVALA, A.; NEGRONI, R.; MESSINA, F.; ROMERO, M.; MARÍ, E.; DEPARDO, R.; WALKER L.; SANTISO, G. Cryptococcosis in an Infectious Diseases Hospital of Buenos Aires, Argentina. Revision of 2041 cases: Diagnosis, clinical features and therapeutics. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 35, n. 1, p.1-10, jan. 2018.
- AYANBIMPE, G. M. Evaluation of extracts of *Jatropha curcas* and *Moringa oleifera* in culture media for selective inhibition of saprophytic fungal contaminants. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 23, n. 3, p. 161-164, 2009.
- BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F.Q.; OLIVEIRA, R. M. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais (Edição Revisada). **Revista Científica da UFPA**. Pará, 2001.

BASTOS, R. W.; CARNEIRO, H.C.S.; OLIVEIRA, L. V. N.; ROCHA, K. M.; FREITAS, G. J.C.; COSTA, M. C.; MAGALHAES, T. F. F.; CARVALHO, V.S. D.; ROCHA, C. E.; FERREIRA, G. F.; PAIXAO, T. A.; MOYRAND, F.; JANBON, G.; SANTOS D.A. Environmental triazole induces cross-resistance to clinical drugs and affects morphophysiology and virulence of *Cryptococcus gattii* and *C. neoformans*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 1, p. 1179-17, jan. 2018.

BERMAS, A; MCALISTER, J.G. Combatting the evolution of antifungal resistance in *Cryptococcus neoformans*. **Molecular Microbiology**, v. 114, n. 5, p. 721-734, jul. 2020.

BIGIO, N.C.; SECCO, R.S.; MOREIRA, A.S. 2020. *Jatropha in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB17582>>. Acesso em: 15 mar. 2021.

BRAQUEHAIS, I.; VASCONCELOS, F.; RIBEIRO, A.; SILVA, A. R. A.; FRANCA, M.; LIMA, D. R.; MAGALHÃES, F. Toxicological, antibacterial, and phytochemical preliminary study of the ethanolic extract of *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (pinhão-bravo, Euphorbiaceae) leaves, collected in Tauá, Ceará, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 582–587, 2016

BRILHANTE, R. S. N.; ESPANA, J. D. A.; ALENCAR, L. P.; PEREIRA, V. S.; CASTELO-BRANCO, D. S. C. M.; PEREIRA-NETO, W. A.; CORDEIRO, R. A.; SIDRIM, J. C.; ROCHA, M. F. G. An alternative method for the analysis of melanin production in *Cryptococcus neoformans sensu lato* and *Cryptococcus gattii sensu lato*. **Mycoses**, v. 60, n. 10, p. 697-702, 2017.

BRUM, T. F.; ZADRA, M.; FROEDER, A. L. F.; BOLIGON, A. A. FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE *VITEX MEGAPOTAMICA* (SPRENGEL) MOLDENKE. **Saúde (Santa Maria)**, v. 37, n. 2, p. 101-106, 2011.

CAMACHO, E.; CHRISSIAN, C.; CORDERO, R. J.B.; LOPES, L. L.; STARK, R. E.; CSADEVALL, A. N-acetylglucosamine affects *Cryptococcus neoformans* cell-wall composition and melanin architecture. **Microbiology**, v. 163, n. 11, p. 1540, out. 2017.

CAMELO, S. B. **Avaliação da atividade antimicrobiana do látex de *Jatropha mollissima* Pohl Baill e *Sapium glandulosum* (L.) Morong**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochemical Pharmacology**. v. 133, p. 86-96, jun. 2017.

CARDOSO, J. C.; OLIVEIRA, M. E. B.S.; CARDOSO, F. C.I. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 124-132, jun. 2019.

CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v. 3, n. 2, p. 44-75, dez. 2014.

CASTRO, M. R.; FIGUEIREDO, F. F. Saberes tradicionais, biodiversidade, práticas integrativas e complementares: o uso de plantas medicinais no SUS. **Hygeia-Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 15, n. 31, p. 56-70, 2019.

CAVALCANTE, N. B.; SANTOS, A. D. C.; ALMEIDA, J. R. G. S. The genus *Jatropha* (Euphorbiaceae): a review on secondary chemical metabolites and biological aspects. **Chemico-biological interactions**, v. 318, p. 108976, 2020.

CHAMMARD, T. B. Estratégias diagnósticas e terapêuticas na criptococose: impacto no resultado. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 7, 2018.

CHAMON JÚNIOR, J. A. **Caracterização dos isolados clínicos de *Cryptococcus* spp. e determinação de sua sensibilidade à antifúngicos e ao extrato de *Eugenia dysenterica***. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, 2016.

CHEN, Y.; FARRER, R. A.; GIAMBERARDINO, C.; SKATHIKUMAR, S.; JONES, A.; YANG, T.; TENOR, J. L.; WAGIH, O.; WYK, M. V.; GOVENDER, N. P.; MITCHELL, T. G.; LITVINTESA, A. P.; CUOMO, C. A.; PERFECT, J. R. Microevolution of Serial Clinical Isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and *C. gattii*. **mBio**. V. 8, n. 2, mar. 2017.

CHIMOWA, T. Cryptococcal meningitis in a previously healthy child. **Malawi Medical Journal**, v. 29, n. 4, p.330-345, jan. 2018.

CLAUSTRE, J. Evolução Favorável da Meningite Criptocócica no Contexto da Resistência à Flucitosina. **Experimental And Clinical Transplantation**, v. 16, n. 1, p.110-113, fev. 2018.

COLOMBO, A. C.; RODRIGUES, M. L. Fungal colonization of the brain: anatomopathological aspects of neurological cryptococcosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 1293-1309, fev. 2015.

COSTA, R. J. O. **Perfil fitoquímico do extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. e avaliação da sua atividade toxicológica, antitumoral e antibacteriana**. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2018.

COWEN, L. E.; SANGLARD, D.; HOWARD S. J.; ROGERS, P. D.; PERLIN, D. S. Mechanisms of antifungal drug resistance. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 5, n. 7, p. 1-23, 2015.

CREPALDI, C. G.; CAMPOS, J. L. A.; ALBUQUERQUE, U. P.; SALES, M. F. Richness and ethnobotany of the family Euphorbiaceae in a tropical semiarid landscape of Northeastern Brazil. **South African Journal of Botany**, v. 102, p. 157-165, jan. 2016.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

CUOMO, C. A.; RHODES, J.; DESJARDINS, C. A. Advances in Cryptococcus genomics: insights into the evolution of pathogenesis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 113, n. 7, p 1-7, dez. 2018.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CARLETTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M. S.; PIATIL, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 15, n. 1, abr. 2011.

DESTRO, M. M. **Isolamento ambiental e caracterização bioquímica de Cryptococcus**. Dissertação (Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp. São Paulo, 2016.

DIAS, W. L. F.; JUNIOR VALE, E.P.; OLIVEIRA, M. D. A.; BARBOSA, Y. L. P.; SILVA, J. N.; JUNIOR COSTA, J. S.; ALMEIDA, P. M.; MARTINS, F. A. Cytogenotoxic effect, phytochemical screening and antioxidant potential of *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill leaves. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 30-35, jul. 2019.

DINIZ, A. M. M.; FEIO, D. C. A.; SILVA, A. S. N.; BURBANO, R. R.; LIMA, P.D. L. Epidemiological and TNF α polymorphism evaluation in patients with cryptococcal meningitis treated at a referral hospital in North Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba, v. 52, p. 1-5, abr. 2019.

DUARTE, J.L.; MOTA, L. J. T.; ALMEIDA, S. S. M. S. Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo). **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 4, n. 1, p. 33-43, jun. 2014.

ESHER, S. K.; ZARAGOZA, O.; ALSPAUGH, J. A. Cryptococcal pathogenic mechanisms: a dangerous trip from the environment to the brain. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 113, n. 7, p. 1-15, mar. 2018.

FANG, W.; FA, Z.; LIAO, W. Epidemiology of *Cryptococcus* and cryptococcosis in China. **Fungal Genetics And Biology**, v. 78, p.7-15, out. 2015.

FIRACATIVE, C.; LIZARAZO, J.; ILLNAIT-SARAGOÇA, M. T.; CASTANEDA, E. The status of cryptococcosis in Latin America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 7, fev. 2018.

FREITAS, A.; COELHO, M.; PEREIRA, Y.; FREITAS NETO, E. C.; AZEVEDO, R. Diversity and uses of medicinal plants in homegardens at the community São João da Varzea, Mossoró, RN. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 845–856, jan. 2015.

FU, M. S.; COELHO, C.; LEON-RODRIGUEZ, C. M.; ROSSI, D. C.P.; CAMACHO, E.; JUNG, E. H.; KULKARNI, M.; CASADEVAL, A. *Cryptococcus neoformans* urease

affects the outcome of intracellular pathogenesis by modulating phagolysosomal pH. **PLoS pathogens**, v. 14, n. 6, p. e1007144, 2018.

FUENTEFRIA, A. M.; PIPI, B.; LANA D. F. D.; DONATO, K. K.; ANDRADE, S. F. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Letters in applied microbiology**, v. 66, n. 1, p. 2-13, nov. 2018.

GANDELMAN, J. S.; SILVA, A. M. Drug development for cryptococcosis treatment: what can patents tell us. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 114, jan. 2019.

GOMES, J. A. S.; SILVA, J. F.; FERNANDES, J. M.; AMARAL, J. G.; LOPES, N. P.; EGITO, E. S. T.; PEDROSA, M. F. F. Aqueous leaf extract of *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail decreases local effects induced by bothropic venom. **BioMed research international**, v. 2016, n. 2016, p. 1-13, out. 2016.

GULLO, F. P.; ROSSI S. A.; SARDI, J. C. O.; TEODORO, V.L.I.; GIANNINI, M.J.S.M.; ALMEIDA, A. M. F. Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment. **European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 32, n. 11, p.1377-1391, jul. 2013.

GUO, L. Y.; LIU, L. L.; LIU, Y.; CHEN, T. M.; LI, S.Y.; YANG, Y. H.; LIU, G. Characteristics and outcomes of cryptococcal meningitis in HIV seronegative children in Beijing, China, 2002–2013. **Bmc Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p.75-90, 4 nov. 2016.

HAMZA O. J.; MATEE, M.I; MOSHI, M. J.; MIKX, F. H.; SELEMANANI, H. O. Antifungal activity of some Tanzanian plants used traditionally for the treatment of fungal infections. **J Ethnopharmacol**, v. 108, n. 1, p.124-132, nov. 2006.

HUANG, S. H.; CHUANG, Y. C.; LEE, Y. C.; HUNG, C. C.; SHENG, W.; SU, J. J.; SUN, H. Y.; CHEN, Y. C., CHANG, S. C. Lumbar puncture for non-HIV-infected non-transplant patients with cryptococcosis: Should it be mandatory for all **Plos One**, v. 14, n. 8, p.22-50, 22 ago. 2019.

KWON-CHUNG, K. J. Um novo gênero, *Filobasidiella*, o estado perfeito de *Cryptococcus neoformans*. **Mycologia**, v. 67, n. 6, pág. 1197-1200, 1975.

LAZZARINI, C.; HARANAHALLI, K.; RIEGER, R.; ANANTHULA, H. K.; DESAI, P. B.; ASHBAUGH, A.; LINKE, M. J.; CUSHION, M. T.; RUZSICKA, B.; HALEY, J.; OJIMA, I.; POETA, M. D. Acylhydrazones as antifungal agents targeting the synthesis of fungal sphingolipids. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 5, p. 15-18, abr. 2018.

LEAL C.K.A.; AGRA M.F. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. e *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerens**. 2005.

LEMO, J. R.; ARAUJO, J. L. Estudo etnobotânico sobre plantas medicinais na comunidade de Curral Velho, Luís Correia, Piauí, Brasil. **Biotemas**, v. 28, n. 2, p. 125-136, 2015.

- LIMA, C. T.; KLAFKE, G. B.; XAVIER, M. O. Cryptococcus spp. em excretas de Columba livia (pombos domésticos) provenientes de um hospital universitário no Sul do Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 82, p. 1-4, out. 2015.
- LIMA, J. O. Morphological characterization of fruits and seeds of *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill.(Magnoliopsida: Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 4, p. 263-269, 2015.
- LINHARES, J. P. Ethnobotany approach taperas of maroon communities of Alcântara, Maranhão, Brazil. **International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients**, v. 2, n. 1, p. 3-3, 2015.
- LIU, K.; DING, H.; QU, J. Clinical analysis of non-AIDS patients pathologically diagnosed with pulmonary cryptococcosis. **Journal Of Thoracic Disease**, [s.l.], v. 8, n. 10, p.2813-2821, out. 2016.
- LIU, Y.; KANG, M.; WU, S. Y.; MA, Y.; CHEN, Z. X.; XIE, Y.; TANG, J. T. Different characteristics of cryptococcal meningitis between HIV-infected and HIV-uninfected patients in the Southwest of China: Table 1. **Medical Mycology**, v. 55, p.255-261, set. 2016.
- MALLMAN, A. P.; SANTOS, C. V.; SILVA, T. L; BANDEIRA, D. M.; LAKOSKI, L. V. Rendimento, caracterização fitoquímica e avaliação de atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de *Ilex brevicuspis* Reissek (Aquifoliaceae) frente a sorotipos de *Salmonella* spp de origem avícola. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 29143-29158, mar. 2021.
- MARMITT, D. J.; BITENCOURT, S.; SILVA, A. C.; REMPEL, C.; GOETTERT, M. I. Scientific production of plant species included in the Brazilian national list of medicinal plants of interest to the unified health system (RENISUS) from 2010 to 2013. **J Chem Pharm Res**, v. 8, n. 2, p. 123-132, 2016.
- MARQUES, W. P. G.; ANJOS, T. O.; COSTA, M. N. R. F. Plantas medicinais usadas por comunidades ribeirinhas do Estuário Amazônico. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 74242-74261, 2020.
- MATTOS, G.; CAMARGO, A.; SOUSA, C. A.; ZENI, A. L. B. Plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária em Saúde: percepção dos profissionais. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, p. 3735-3744, 2018.
- MAY, R. C.; STONE, N.; WIESNER, D. L.; BICANIC, T.; NIELSEN, K. Cryptococcus: from environmental saprophyte to global pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 2, p. 106, dez. 2016.
- MAZIARZ, E. K.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics Of North America**, [s.l.], v. 30, n. 1, p.179-206, mar. 2016.
- MEDEIROS, D. S.; LIMEIRA, R. R. T.; SANTIAGO, C. R. G.; ARAÚJO, M. R. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, J. K.; LIMA, E. O. Plantas medicinais utilizadas no tratamento de problemas bucais no estado da Paraíba, Brasil: uma revisão de literatura. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, v. 8, n. 9, 2019.

MELRO, J. C.; FONSECA, S. A.; SILVA, J. M.; FRANCO, S. P. B.; SOUZA, M. A.; COSTA, J. G.; PIMENTEL, Y. F. C.; BOMFIM, M. R. P.; ALMEIDA, E. M.; MATOS-ROCHA, T. J.; SANTOS, A. F. Ethnobotanical study of Medicinal plants used by the population assisted by the (Family Health Program) in Marechal Deodoro-AL, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 2, p.410-423, mai. 2020.

MENEZES FILHO, A. C. P.; CASTRO, C. F. S. Identificação das classes de metabólitos secundários em extratos etanólicos foliares de *Campomanesia adamantium*, *Dimorphandra mollis*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Kielmeyera lathrophytum* e *Solanum lycocarpum*. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 9, n. 1, p. 89-101, mar. 2019.

MING, D. K; HARRISON, T. S. Cryptococcal meningitis. **British Journal Of Hospital Medicine**, v. 78, n. 8, p.125-127, ago. 2017.

MIRANDA, J. A. L.; ROCHA, J.A.; ARAÚJO, K.M.; QUELEMES, P.V.; MAYO, S.J.; ANDRADE, I.M Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 1142-1149, jul. 2015.

MOHAMMAD, H.; KYEI-BAFFOUR, K.; YUNIS, W.; DAVIS, D. C.; ELDESOUKY, H.; SELEEM, M. N.; DAI, M. Investigation of aryl isonitrile compounds with potent, broad-spectrum antifungal activity. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 25, n. 11, p. 2926-2931, jun.2017.

MUKAREMERA, Liliane; NIELSEN, Kirsten. Adaptive immunity to *Cryptococcus neoformans* infections. **Journal of fungi**, v. 3, n. 4, p. 64, 2017.

OLIVEIRA, J. F. F.; ANDRADE, A. P.; VALENÇA, R. L.; CUNHA, G. L, C.; ARAÚJO, F. S.; MAGALHÃES, A. L. R. Metabólitos secundários presentes na palma forrageira: benefícios e potencialidades. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 2, p. 1- 16, fev. 2021.

OLIVEIRA, L. D. Q. **Influência dos óleos essenciais de *Cinnamomum cassia* e *Cymbopogon flexuosus* sobre a suscetibilidade e fatores de virulência em leveduras do complexo *Cryptococcus neoformans***. Dissertação (Pós-graduação em Biologia das Relações Parasito-Hospedeiro), Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2017.

OLIVEIRA, L. S. Plantas medicinais como recurso terapêutico em comunidade do entorno da reserva biológica do tinguá, RJ, Brasil—metabólitos secundários e aspectos farmacológicos. **InterSciencePlace**, v. 1, n. 17, 2015.

OLIVEIRA, N. T.; ALMEIDA, S. S. M. S. Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas da espécie *Ambelania acida* Aublet (Apocynaceae). **Biota Amazônia**, v. 6, n. 1, p. 20-25, fev. 2016.

OLIVEIRA, R. L. C.; LINS NETO, E. M. F.; ARAÚJO, E. L. Prioridades de Conservação e Estrutura Populacional de Plantas Mediciniais Lenhosas em uma Área de Vegetação de Caatinga (Estado de Pernambuco, NE do Brasil). **Environ Monit.** p. 189–206, 2007.

PAIXÃO, C. F. Etnobotânica: plantas medicinais na comunidade do Cambury-Ubatuba-SP. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, jun. 2020.

PEREIRA, A. M. Criptococose em paciente Imunocomprometidos e Imunocompetentes. **Saúde em Foco**, Teresina, v. 1, n. 10, p.236-243, out. 2018.

PEREIRA, J. B. A.; RODRIGUES, M.M.; MORAIS, I.R.; VIEIRA, C.R.S.; SAMPAIO, J.P.M.; MOURA, M.G.; DAMASCENO, M.F.M.; SILVA, J.N.; CALOU, I.B.F.; DEUS, F.A.; PERON, A.P.; ABREU, M.C.; MILITÃO, G.C.G.; FERREIRA, P.M.P. O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 17, n. 4, p. 550-561, set. 2015.

PEREIRA, R.; SOUZA, E. B.; FONTENELLE, R. O. S.; VASCONCELOS, M. A.; SANTOS, H. S.; TEIXEIRA, E. H. Diversidade estrutural e potencial biológico dos metabólitos secundários de espécies do gênero *Myroxylon* Lf (Fabaceae): uma revisão da literatura. **Hoehnea**, v. 46, 2019.

PERFECT, J. R.; BICANIC, T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. **Fungal Genetics And Biology**, v. 78, p.49-54, mai. 2015.

PIO, I. D. S. L.; LAVOR, A. L.; DAMASCENO, C. M. D.; MENEZES, P. M. N.; SILVA, F. S.; MAIA, G. L. A. Traditional knowledge and uses of medicinal plants by the inhabitants of the islands of the São Francisco river, Brazil and preliminary analysis of *Rhaphiodon echinus* (Lamiaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 1, p. 87-99, fev. 2019.

PIZANI, A.T.; SANTOS, M.O. Criptococose em pacientes HIV positivos: Revisão Sistemática da Literatura. **Revista Saúde UniToledo**, Araçatuba, SP, v. 01, n. 01, p. 90-106, ago. 2017.

QUEIROZ NETO, R. F.; JUNIOR, H. N. A.; FREITAS, C. I. A.; COSTA, K. M. F. M.; ABRANTES, M. R.; ALMEIDA, J. G. L.; TORRES, T. M.; MOURA, G. H. F.; BATISTA, J. S. Pinhão-bravo (*Jatropha mollissima* pohl baill.): caracterização fitoquímica e atividades farmacológicas do látex e dos seus extratos. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 40, n. 6, p. 2613-2624, dez. 2019.

RAHU, M. I.; NAQVI, S. H. A.; MEMON, N.H.; IDREES, M.; KANDHRO, F.; PATHAN, N. L.; SARKER, M. N. I.; BHUTTO, M. A. Determinação de compostos antimicrobianos e fitoquímicos da planta de *Jatropha curcas*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 5, p. 2867-2876, 2021.

REZENDE, F. M; ROSADO, D.; MOREIRA, F. A.; CARVALHO, W. R. S. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. In: Hidalgo, E. M.P (Org.). **VI Botânica no Inverno**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, São Paulo, Cap. 10, p. 93-104, nov. 2016.

RIBEIRO, A. R. C. **Prospecção química, toxicidade do extrato etanólico de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill.(Euphorbiaceae) e seu efeito sobre ovos, larvas e adultos de *Haemonchus contortus* no semiárido paraibano.** UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE. Paraíba, p. 33. 2014.

ROCHA, F. A. G.; DANTAS, L. Í. S. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO DO LÁTEX DO AVELOZ (*Euphorbia tirucalli* L.), PINHÃO BRAVO (*Jatropha mollissima* L.) E PINHÃO ROXO (*Jatropha gossypifolia* L.) SOBRE MICRORGANISMOS PATOGENICOS. **Holos**, v. 4, p. 3-11, 2009.

ROCHA, N. F. **Atividade antioxidante e antitumoral em extratos de *Jatropha curcas* L.** DISSERTAÇÃO (Pós- Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) - Universidade Federal da Bahia. Bahia, 2013.

RODRIGUES, M. L. Neglected disease, neglected populations: the fight against *Cryptococcus* and cryptococcosis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 113, n. 7, 2018.

SÁ, N. P. I.; BARROS, P. P.; JUNQUEIRA, J. P.; VAZ, J. A.; OLIVEIRA, R. B.; ROSA, C. A.; SANTOS, D. A.; JOHANN, S. Thiazole derivatives act on virulence factors of *Cryptococcus* spp. **Medical mycology**, v. 57, n. 1, p. 84-91, jan. 2019.

SABANDAR, C. W.; AHMAT, N.; JAAFAR, F. M.; SAHIDIN, I. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review. **Phytochemistry**, v. 85, n. 1, p. 7-29, jan. 2013.

SAGATOVA, A. A; KENIYA, M. V.; TYNDALL, J. D.A; MONK, B. Impact of homologous resistance mutations from pathogenic yeast on *Saccharomyces cerevisiae* lanosterol 14 α -demethylase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 3, p.17, fev. 2018.

SANTOS, M. P. **Extração e caracterização de extratos de *Jatropha gossypifolia* L.: avaliação da sua atividade antimicrobiana e antioxidante.** Tese de Doutorado. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, 2014.

SETIANINGRUM, F.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R.; DENNING, D. W. Pulmonary cryptococcosis: A review of pathobiology and clinical aspects. **Medical mycology**, v. 57, n. 2, p. 133-150, ago. 2018.

SILVA, A. A. O.; FIGUEREDO, A.T. F. B.; SANTOS, P. A.; BELO, E. S.; SOUZA, M. J.M. F. ANÁLISE FITOQUÍMICA E DOSEAMENTO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DAS FOLHAS DE *Miconia albicans* (Sw) TRIANA COLETADAS DE DUAS REGIÕES DO ESTADO DE GOIÁS. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 10, n. 1, p. 71-91, 2021 a.

SILVA, A. C.; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 381-388, 2016.

SILVA, A. I. B.; SÁ FILHO, G. F.; OLIVEIRA, L. C.; GUZEN, F. P.; CAVALCANTI, J.R. L. P. Perfil fitoquímico de extratos etanólicos e metanólicos do *Croton blanchetianus*. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 24, n. 1, 2021 b.

SILVA, J. F.; GIORDANI, R. B.; SILVA-JUNIOR, A. A. D.; ZUCOLOTTI, S. M.; PEDROSA, M. D. F. *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae): a review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of this medicinal plant.

Evidence-Based Complementary Alternative Medicine, v. 2014, n. 2014, p. 1-32, jun. 2014.

SILVA, L. C. R.; NUNES-PINHEIRO, D.C.S.; MORAIS, S.M.; LOPES-NETO, B.E.; SANTOS, G.J.L.; CAMPELLO, C.C. Avaliação toxicológica e efeito do extrato acetato de etila da fibra de *Cocos nucifera* L. (Palmae) sobre a resposta inflamatória in vivo. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 11, p. 429-434, mai. 2009.

SILVA, N. C. S.; VITOR, A. M.; BESSA, D. H. S.; BARROS, R. M. S. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos em prol da saúde. **Únicas cadernos acadêmicos**, v. 3, n. 1, 2017.

SIDRIM J.; ROCHA M. Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos, **Guanabara Koogan**, 2004

SOUZA, C. A. S.; ALMEIDA, L. N.; CRUZ, E. S.; SILVA, C. M. L.; NASCIMENTO JÚNIOR, J. A. C.; AMARAL, F. S.; SERAFIN, M. R. Controle de qualidade físico-químico e caracterização fitoquímica das principais plantas medicinais comercializadas na feira-livre de Lagarto-SE. **Scientia Plena**, v. 13, n. 9, set. 2017.

SOUZA, R. G.; SOUSA, C. M. Incidência de *Cryptococcus Neoformans* em fezes de pombos (*Columba Livia*) na área central da cidade de Porto Velho, RO. **Saber Científico (1982-792X)**, v. 7, n. 1, p. 13-22, jun. 2018.

SPADARI, C. C.; WIRTH, F.; LOPES, L. B.; ISHIDA, K. New Approaches for Cryptococcosis Treatment. **Microorganisms**, v. 8, n. 4, p. 613, fev. 2020.

TAPIA, C.; BELT, N. Gênero *Cryptococcus*. **Rev. chil. Infectol.** Santiago, v. 31, n. 6, p. 719-720, dez. 2014.

TIWARI, P. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v.1, n.1, p.98-106, 2011.

TRINDADE, M.J. S.; LAMEIRA, O. A. Espécies úteis da família Euphorbiaceae no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n. 4, 2014.

VARGAS-SINISTERRA, A. F.; PABON-VIDAL, A.; RIOS-ORREGO, A.; RAMIREZ, G.; LOPEZ-BARROS, E. P. Evaluación in vitro de la actividad antiplasmodial y citotóxica de plantas del sur pacífico colombiano (Tumaco, Nariño). **Biotecnología en el Sector Agropecuario y agroindustrial**, v. 16, n. 2, p. 79-87, 2018.

VASCONCELOS, G. C. L.; FERNANDES, F. S; AMADORA, A. M; AMADORA, K. A. M.; ARRIEL, N. H. C. Caracterização morfológica de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 3, p. 263-268, set. 2014.

VIEIRA JÚNIOR, J. N. **Estudo clínico-epidemiológico da meningite criptocócica em pacientes HIV negativos em um centro de referência no Piauí**. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) -Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Teresina, 2015.

VIEIRA, D. S. **Uso tradicional de plantas medicinais nas Comunidades Quilombolas Palmeira Dos Negros e Sapé em Igreja Nova-Alagoas.** 2021.

VIJ, R.; CORDERO, R. J. B.; CASADEVALL, A. The buoyancy of *Cryptococcus neoformans* is affected by capsule size. **Mosphere**, v. 3, n. 6, p. e00534-18, nov. 2018.

VILAS-BÔAS, A. M.; ANDRADE-SILVA, L. E.; FERREIRA-PAIM, K.; MORA, D. J.; FERREIRA, T. B.; SANTOS, D. A. High genetic variability of clinical and environmental *Cryptococcus gattii* isolates from Brazil. **Medical Mycology**, v. 58, n. 8, p. 1126-1137, nov. 2020.

WALTER, L. S. **Caracterização morfológica e potencial germinativo de sementes de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. submetidas à estresses abióticos.** Dissertação. (Pós-Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná. Paraná, p. 107. 2020.

WILLIAMSON, P. R.; JARVIS, J. N.; PANACKAL, A. A.; FISHER, M. C.; MOLLOY, S. F.; LOYSE, A.; HARRISON, T. S. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. **Nature Reviews Neurology**, v. 13, n. 1, p.13-24, 25 nov. 2016.

WORASILCHAI, N.; TANGWATTANACHULEEPORN, M.; MEESILPAVIKKAI, K. FOLBA, C.; KANGOGO, M.; GRO, U.; WEIG, M.; BADER, O.; CHINDAMPORN, A. Diversity and antifungal drug susceptibility of *Cryptococcus* isolates in Thailand. **Medical mycology**, v. 55, n. 6, p. 680-685, out. 2016.

ZENI, A. L. B.; PARISOTTO, A. V.; MATTOS, G.; SANTA HELENA, E. T. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 2703-2712, 2017.